



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **07233165 A**(43) Date of publication of application: **05.09.95**

(51) Int. Cl.

C07D405/12
C12P 17/16
// A01N 43/40
A61K 31/44
(C07D405/12 , C07D213:81 ,
C07D321:00), (C12P 17/16 , C12R 1:645)

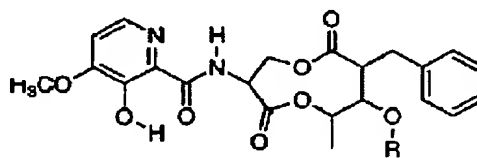
(21) Application number: **06026884**(22) Date of filing: **24.02.94**(71) Applicant: **SUNTORY LTD MEIJI SEIKA
KAISHA LTD**

(72) Inventor: **TANIGUCHI MAKOTO**
SHIBATA KOZO
ABE KEIICHI
KODAMA TORU
UOTANI KAZUMICHI
ONISHI YOSHITAKA

(54) NEW ANTIFUNGAL COMPOUND**(57) Abstract:**

PURPOSE: To obtain a new antifungal compound, having a 9-membered ring dilactone structure, capable of manifesting strong antifungal actions, having low cytotoxicity to a cultured cell and low toxicity to humans, mammals and fishes and useful as medicines, medicines for animals and agricultural and horticultural antifungal agents, etc.

CONSTITUTION: This antifungal compound UK-2 is expressed by the formula (R is a saturated aliphatic acyl or an unsaturated aliphatic acyl, preferably isobutyl, tigloyl, isovaleryl or 2-methylbutanoyl). The compound expressed by the formula is obtained by culturing a microorganism, which belongs to the genus *Streptoverticillium* and capable of producing the antifungal compound UK-2, preferably *Streptoverticillium* sp. SAM2084 usually in a liquid culture medium by the shaking culture or spinner culture with aeration and extracting and purifying the compound from the resultant culture solution and/or cultured microbial cell.



COPYRIGHT: (C)1995,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-233165

(43) 公開日 平成7年(1995)9月5日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 405/12	2 1 3			
C 1 2 P 17/16		7432-4B		
// A 0 1 N 43/40	1 0 1 D			
A 6 1 K 31/44	A D Z			
(C 0 7 D 405/12				

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 10 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平6-26884

(22) 出願日 平成6年(1994)2月24日

(71) 出願人 000001904

サントリー株式会社

大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号

(71) 出願人 000006091

明治製菓株式会社

東京都中央区京橋2丁目4番16号

(72) 発明者 谷口 誠

大阪府岸和田市上松町1201の3

(72) 発明者 柴田 耕造

大阪府和泉市緑ヶ丘23の8

(74) 代理人 弁理士 石田 敬 (外2名)

最終頁に続く

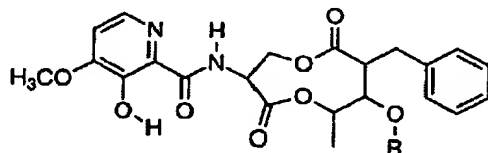
(54) 【発明の名称】 新規抗真菌化合物

(57) 【要約】

【目的】 強い抗真菌作用を示し、かつ安全性の高い物質を得ることを目的とする。

【構成】 式(1) :

【化1】

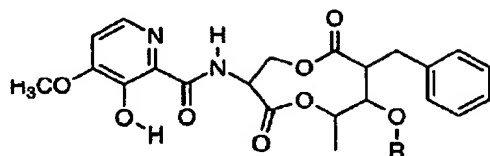


(式中、Rは直鎖もしくは分岐の飽和脂肪族アシル基または直鎖もしくは分岐の不飽和脂肪族アシル基を示す)で表される抗真菌化合物。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式(1)：

【化1】



(式中、Rは直鎖もしくは分岐の飽和脂肪族アシル基または直鎖もしくは分岐の不飽和脂肪族アシル基を示す)で表される抗真菌化合物。

【請求項2】 Rで示される脂肪族アシル基が、イソブチリル基、チグロイル基、イソバレリル基または2-メチルブタノイル基である請求項1に記載の抗真菌化合物。

【請求項3】 ストレプトバーティシリウムに属する、請求項1に記載の化合物生産菌を培養して、その培養液および/または培養菌体から請求項1に記載の抗真菌化合物を製造する方法。

【請求項4】 前記抗真菌化合物生産菌がストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084 (Streptoverticillium sp. SAM2084, 工業技術院生命工学工業技術研究所受託番号FERM P-14154である請求項3に記載の抗真菌化合物を製造する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は新規な抗真菌抗生物質UK-2およびその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 酵母および糸状菌は真核生物であり、原核生物である細菌に対して真菌と称されている。これらの真菌のうちある種のものはヒトに対して病原性を示し、真菌感染症の起因菌とされている。これら真菌の病原性は概ね弱いものであるが、何らかの原因で抵抗力の低下した状態の患者には、重篤な症状を来すことがあり、その治療に有用な薬剤の開発が待たれている。

【0003】 また、ある種の真菌は植物病原菌として知られており、植物病防御の面でも、新たな農薬用防衛剤の開発が待たれている。さらに、最近の住宅事情を反映した結露等による住宅への糸状菌の侵入は、ヒトにアレルギー等の症状をもたらすので、この有効な対策が待たれている。

【0004】 従来、これらの問題点を克服すべく、種々の抗真菌抗生物質や抗真菌剤が開発されており、一応の成果が得られてはいるが、前述のように真菌はヒトと同様に真核生物であり、強い抗真菌作用を示す物質はヒトに対しても毒性を示す場合が多く、実用面で多くの解決すべき課題が残されている。

【0005】

【発明が解決すべき課題】 このように、強い抗真菌作用

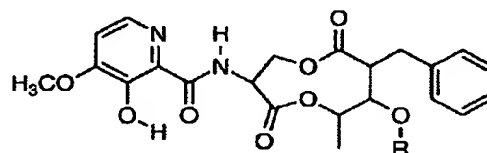
を示し、かつ、安全性の高い物質を得ることが、本発明が解決すべき課題である。

【0006】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、これらの背景のもと、より安全性に優れた抗真菌剤の開発を目指し、抗真菌活性と培養細胞(マウス白血病P388)に対する細胞毒性を指標に、広く土壌分離菌からの有用化合物のスクリーニングを実施し、ストレプトバーティシリウムに属する菌株が、強い抗真菌作用を示し、かつ、培養細胞に対する細胞毒性が低い物質を産生することを見だし、この抗真菌化合物の単離・精製およびその構造決定を試みた結果、この化合物が、式(1)：

【0007】

【化2】



【0008】 (式中、Rは直鎖もしくは分岐の飽和脂肪族アシル基または直鎖もしくは分岐の不飽和脂肪族アシル基を示す)で表される新規の構造を有する抗真菌化合物であることを見だし、この化合物をUK-2と命名した。

【0009】 さらに本発明者らは、このUK-2が、糸状菌および酵母を始めとする種々の真菌に対して抗真菌活性を有し、医療用抗真菌剤、農薬用防衛剤および工業用防衛剤の有効成分として有用であることを見だし、本発明を完成した。すなわち、本発明によれば、前記式(1)で表される新規な抗真菌物質UK-2とその製造法を提供することができる。

【0010】 本発明に使用される微生物としては、前記式(1)で示されるUK-2を生産することができるストレプトバーティシリウムに属する微生物であれば、いずれも使用することができる。このような微生物は、土壌等の微生物分離源から常法に従って放線菌を分離し、次にこれらの菌株からUK-2を生産する菌株を選択することにより得られる。このようなUK-2生産菌の一例としては、本発明者らが京都府の土壌より分離し、その菌学的性質からストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084株 (Streptoverticillium sp. SAM2084) と命名して、平成6年2月17日に受託番号FERM P-14154として工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託した放線菌を挙げることができる。この微生物は、放線菌の保存のための常法に従って保存することができる。この微生物SAM2084株は次のような菌学的性質を有する。

【0011】 1. 形態的性状：栄養菌糸は長く伸長、よく分岐し、通常の条件下では分断しない。気菌糸はスターチ寒天、グリセロール・アスパラギン寒天、イースト

・麦芽寒天で豊富に着生し、孢子形成も良好である。気菌糸の分岐は典型的な車軸分岐である。分岐枝の先端はトックリ様を呈し、10～20本の直線状の孢子連鎖を着生する。電子顕微鏡による観察では、孢子は円筒型、 $0.5 \sim 0.6 \times 1.5 \sim 2.0 \mu\text{m}$ の大きさで、表面は平滑、通常10～20個程度連鎖する。孢子囊、運動性孢子および菌核は観察されない。

【0012】II. 各種培地上の生育状態：各種寒天培地 *

【表1】各種培地上の生育状態

培地	発育/裏面の色	気菌糸の性状/色	可溶性色素
シュクロース硝酸塩寒天	微弱/なし	なし	なし
グルコース・アミノ酸寒天	良好/なし	なし	なし
グリセロール・アミノ酸寒天	良好/黒褐色	豊富 綿毛状 /淡黄灰色(1 1/2ec)	淡褐色
スターチ寒天	良好/淡褐色	豊富 綿毛様 /淡黄灰色(1 1/2ec)	なし
オートミール寒天	普通/淡褐色	貧弱 /淡灰色(1dc)	なし
イースト・麦芽寒天	良好/黒褐色	豊富 綿毛様 /灰緑色(1 1/2ge)	黒褐色
チロシン寒天	微弱/なし	なし	なし
栄養寒天	普通/なし	なし	なし
リゾ酸・アミノ酸寒天	微弱/なし	なし	なし
ベネット寒天	良好/淡褐色	豊富 綿毛様 /灰緑色(1 1/2ge)	淡褐色

【0014】III. 生理的性質：

(1). 生育温度範囲：イースト・スターチ寒天において15～41℃の温度範囲で生育し、30℃付近で良好に生育する。

(2). ゼラチンの液化：陽性

(3). スターチの加水分解：陽性

(4). 硝酸塩の還元：陽性

(5). 脱脂乳のペプトン化：陽性

脱脂乳の凝固：陰性

(6). 耐塩性：1. 5% NaCl 含有培地では生育するが、NaCl 3%以上では強く生育阻害を受ける。

(7). メラニン様色素の生成：陰性

【0015】IV. 炭素源の利用性 (ISP-9培地使用)

* 上の生育状態は【表1】に示す通りである。色の記載について、(括弧内)に示す標準は、コンテナ・コーポレーション・オブ・アメリカ(Container Corporation of America)社製の「カラー・ハーモニー・マニュアル(Color Harmony Manual)」に記載のものを採用し、観察は28℃で14～21日培養後に行った。

【0013】

【表1】

※ (1). 利用する炭素源：D-グルコース，D-フルクトース，グリセロール，キシロース，D-マンニトール，myo-イノシトール，シュクロース，L-アラビノース
 (2). 利用しない炭素源：L-ラムノース，ラフィノース
 【0016】V. 菌体分析：ベッカー(Becker)らの方法(Appl. Microbiol. 13:236, 1965)により分析した結果、全菌体加水分解物中のジアミノピメリン酸はLL型であった。

【0017】以上の性状より、SAM2084株は放線菌の中でストレプトバクテリウム属(Genus Streptovorticillium)に所属し、気菌糸色調は“Yellow to Green”シリーズ、気菌糸の分岐は車軸型で孢子連鎖は直線状、孢子表面は平滑状、生育裏面の色調は淡褐色～黒褐色で、褐色系の可溶性色素を生産する菌株と要約され

る。このような菌学的性質を持つ菌株を、ストレプトバーティシリウム属の種の記載と比較すると、ストレプトバーティシリウム・モロオカエンス(*Streptovorticillum morookaense*)に近縁と考えられる。しかし、生理的性質で相違する点も幾つか存在しており、本菌株をストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084株(*Streptovorticillum* sp. SAM2084)と呼称する。

【0018】前記式(1)のRで示される直鎖または分岐の飽和脂肪族アシル基の例としては、アセチル基、プロピオニル基(プロパノイル基)、ブチリル基(ブタノイル基)、イソブチリル基(2-メチルプロパノイル基)、バレリル基(ペンタノイル基)、イソバレリル基(3-メチルブタノイル基)、ヘキサノイル基、ヘプタノイル基、オクタノイル基、ノナノイル基、デカノイル基、ラウロイル基(ドデカノイル基)、ミリストイル基(テトラデカノイル基)、パルミトイル基(ヘキサデカノイル基)、ステアロイル基(オクタデカノイル基)

(注:カッコ内は一般に使用される慣用名とは異なるIUPAC名を有する基の場合のそのIUPAC名を示す。以下同じ)等が例示され、式(1)のRで示される直鎖または分岐の不飽和脂肪族アシル基の例としては、アクリロイル基(プロペノイル基)、メタクリロイル基(2-メチルプロペノイル基)、クロトノイル基(*trans*-2-ブテノイル基)、イソクロトノイル基(*cis*-2-ブテノイル基)、チグロイル基(*trans*-2-メチル-2-ブテノイル基)、アングロイル基(*cis*-2-メチル-2-ブテノイル基)、オレオイル基(*cis*-9-オクタデセノイル基)、エライドイル基(*trans*-9-オクタデセノイル基)等が例示される。また、かかるUK-2化合物の好ましい具体的な例としては、Rがイソブチリル基(2-メチルプロパノイル基)であるUK-2A、チグロイル基(*trans*-2-メチル-2-ブテノイル基)であるUK-2B、イソバレリル基(3-メチルブタノイル基)であるUK-2Cおよび2-メチルブタノイル基であるUK-2D等が例示できる。

【0019】本発明のUK-2化合物は、ストレプトバーティシリウム属に属するUK-2生産菌、例えば、前述のストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084を培養して該物質を生産蓄積させ、その培養液および/または培養菌体から通常の精製手段を用いて精製することにより製造することができる。通常の培養では、UK-2化合物は、Rに種々のアシル基が導入された類縁体の混合物として産生され、主な生産物はUK-2AおよびUK-2Dであり、UK-2B、UK-2Cおよびその他のUK-2化合物は微量しか産生されない。この培養において、培地に所望の脂肪族アシル基Rに対応する脂肪酸又はそのナトリウム塩、カリウム塩、アンモニウム塩等の可溶性塩を好ましくは1~100ppm、更に好ましくは1~10ppm添加することにより、Rに所望の脂肪族アシル基を導入した化合物を得る

ことができる。例えば、上記培養において、培地に10ppmのイソ吉草酸を添加して培養すれば、対応するアシル基を有するUK-2化合物であるUK-2Cの生産量を増加させることができる。

【0020】本発明化合物の製造に際し、前記放線菌の培養に使用される培地は、液状でも固体でもよいが、通常は液体培地による振盪培養または通気攪拌培養が有利である。使用する培地は、本発明物質生産菌が生育して本発明物質を蓄積するものであれば、特に限定されるものではないが、炭素源としては、生産菌が資化する糖類、例えばグルコース、ラクトース、グリセリン、デンプン、シュクロース、デキストリン、糖蜜等が用いられ、また窒素源としては、例えばポリペプトン、カザミノ酸等の蛋白質加水分解物、肉エキス、酵母エキス、大豆粕、コーンステイープリカー、アミノ酸類等の有機窒素源やアンモニウム塩や硝酸塩等の無機窒素源が用いられる。その他、浸透圧調整、pH調整、微量成分の補給等のために、各種磷酸塩、硝酸マグネシウム、塩化ナトリウム、炭酸カルシウム等の無機塩類を添加することも可能である。さらに菌の生育を促進する目的で、各種ビタミン類、核酸関連化合物等を添加しても良い。なお、培養期間中に、シリコン、ポリプロピレングリコール誘導体、大豆油等の消泡剤を添加することも可能である。

【0021】培養にあたっては、常法に従って、予め小規模で前培養を行って得られる培養物を用いて、本培養を行うことが望ましい。本培養の培養温度、培養期間、培養液のpH、通気量等の培養条件は、本発明の物質の蓄積が最大になるように、適当に選択、調節されるが、多くの場合、好ましくは0.5~2vvm、更に好ましくは0.5~1vvm程度の通気条件下に、一般には15~41℃、好ましくは20~37℃、更に好ましくは25~30℃の温度で2~3日間、中性pH付近で培養することが好ましい。

【0022】本発明の化合物は、上記培養において、培養液および菌体の両方に蓄積されるので、培養液からは、酢酸エチル、クロロホルム、ジクロロメタン等の水とは任意に混合せず、しかも本発明の化合物を有効に抽出し得る有機溶媒を用いて抽出することができる。また、培養菌体からは、濾過もしくは遠心分離等の手段で集菌した菌体を、アセトン等の細胞壁を破壊する作用を有する溶媒を用いて、直接抽出することができる。さらに、培養菌体をガラスビーズ等を用いて破碎した後に、培養液からの抽出と同様に抽出することもできる。

【0023】得られた粗抽出物から、本発明のUK-2化合物を単離・精製するには、通常の精製法を用いることができる。即ち、溶媒転溶、順相および逆相カラムクロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、結晶化等の精製手段を組み合わせることにより、単離・精製することができる。また、本発明のUK-2化合物は、Rに種々のアシル基が導入された類縁体の混合物として

產生されるので、その類縁体の単離・精製には、順相および逆相の高速液体クロマトグラフィー（HPLC）が特に有用である。例えば、通常の培養から得られた粗抽出物を減圧濃縮し、これをクロロホルムに転溶してシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、これをクロロホルム／メタノールのステップワイズで溶出すれば、UK-2AおよびUK-2Dを約3：1の割合で含有し、ここに微量のUK-2BおよびUK-2Cが混入したフラクションを得ることができる。さらにこれをC-18カラムを用いる逆相HPLCで処理することにより、これらの類縁体UK-2A、UK-2B、UK-2CおよびUK-2Dを単離することができる。

【0024】得られたUK-2化合物は、それぞれを単離して用いても良いが、それぞれの類縁体が同様の抗真菌活性を示すので、本発明の効果を損なわない限り、これらのUK-2化合物を単離することなく、混合物として用いることも可能である。

【0025】

【作用】本発明のUK-2化合物は、カンジダ等の酵母およびアスペルギルス、ペニシリウム、ムコール、クラドスポリウム、リゾプス、スクレロチナ、トリコデルマ等の糸状菌を含む真菌に対して強い抗菌作用を示すが、細菌に対する抗菌作用を示さない。また、培養細胞（マウス白血病P388）に対する細胞毒性が低いことから、本化合物に感受性を有する真菌が原因である真菌感染症治療用の抗真菌剤をはじめ、農園芸用抗真菌剤または工業用抗真菌剤として使用することが可能である。

【0026】本発明のUK-2化合物を真菌感染症治療用の抗真菌剤として使用するには、種々の投与形態に合わせて、UK-2を公知の医薬品用担体とを組み合わせる製剤化すれば良い。このような投与形態としては皮下注射、静脈内注射、筋肉内注射、坐薬等による経口投与あるいは錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等による経口投与の全身投与の他、軟膏剤、ローション剤、膈坐薬等の局所投与の形態を例示することができる。

【0027】本発明のUK-2化合物を農園芸用抗真菌剤として使用するには、種々の使用形態に合わせて、公知の担体および必要に応じて公知の補助剤とを組み合わせる製剤化すれば良い。このような製剤形態の例としては、粉剤、顆粒剤などの固形剤、溶液、乳剤、懸濁液、エアゾール剤等の液剤を例示することができる。このような農園芸用抗真菌剤は、本化合物に感受性を有する植物病原菌が原因である病害の防除に使用することができる。

【0028】本発明のUK-2化合物を工業用抗真菌剤として使用するには、種々の使用形態に合わせて、公知の担体および必要に応じて公知の補助剤とを組み合わせる製剤化すれば良い。このような工業用抗真菌剤は、一般産業用製品およびこれらの製品の製造工程中で問題となる有害真菌の繁殖を防御し、有害真菌の汚染を防止す

るために使用されるものであり、具体的には木材の表面汚染を防止する防霉剤、木材製品等の腐朽菌対策剤、塗料に添加する防腐・防霉剤、壁装剤、高分子加工時に添加する防霉剤、皮革、繊維および織物の加工に用いる防霉剤等を例示することができる。

【0029】

【実施例】次いで、実施例および評価例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお、以下の例において「%」は特にことわらない限り「W/V%」である。

【0030】実施例1：UK-2A {式(1)において、Rがイソブチリル基（2-メチルプロパノイル基）である化合物}の製造。

ステップa：ストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084の培養

グルコース1%、可溶性デンプン1%、小麦胚芽0.6%、ポリペプトン0.5%、乾燥酵母エキス0.3%、大豆粉0.2%、炭酸カルシウム0.2%を含み、pH7.0に調整した培地（以下、培地1と称する）を500ml容培養三角フラスコに100ml分注して、オートクレーブで滅菌した。これに斜面培養からストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084を1白金耳接種し、30℃で2日間ロータリーシェーカーで培養して種培養を得た。

【0031】5リットル容ジャーファーマンターに3リットルの培地1を仕込み、加熱殺菌の後、上記の種培養を30ml添加して、30℃で、回転数500rpm、通気量1vvmの条件で48時間通気攪拌培養して、前培養とした。

【0032】600リットル容培養タンクに、グルコース3%、麦芽エキス0.5%、乾燥酵母エキス0.5%、炭酸カルシウム0.2%を含み、pH7.0に調整した培地（以下、培地2と称する）を300リットル仕込み、加熱殺菌の後、上記の前培養を3リットル添加して、30℃で、回転数250rpm、通気量1vvmの条件で48時間通気攪拌培養した。

【0033】ステップb：UK-2の抽出

ステップaで得られた培養液約300リットルをセライトを用いて濾過・集菌し、菌体に110リットルのアセトンを加えて抽出した。抽出液を減圧下に濃縮し、溶媒を留去した。これに25リットルのクロロホルムを加えてUK-2を抽出した。得られた抽出液を減圧下に濃縮し、溶媒を留去して油状物質150gを得た。

【0034】ステップc：UK-2の粗精製

ステップbで得られた抽出物の15gを60mlのクロロホルムに溶解し、シリカゲル（ワコーゲルC-200・和光純薬工業製）を用いるカラムクロマトグラフィー（φ12×44cm、Vt=5リットル）に付し、5リットルずつの、クロロホルム、クロロホルム／メタノール99：1（容積比、以下同じ）混液、クロロホルム／

10

20

30

40

50

メタノール97:3混液、クロロホルム/メタノール94:6混液、クロロホルム/メタノール90:10混液の展開溶媒を用いてステップワイズで溶出した。活性物質はクロロホルム/メタノール97:3混液で溶出されたので、これを集めて減圧下に溶媒を留去し、粗精製物900mgを得た。この粗精製物は、UK-2A(Rがイソブチリル基の化合物)およびUK-2D(Rが2-メチルブタノイル基の化合物)を約3:1の割合で含有する他、微量のUK-2B(Rがtrans-2-メチル-2-ブテノイル基)およびUK-2C(Rが3-メチルブタノイル基の化合物)を含有していた。同様の操作をステップbで得られた抽出物について繰り返すことにより、合計約9gの粗精製物を得た。

【0035】ステップd: UK-2Aの精製

ステップcで得られた粗精製物をDevelosil-*

【表2】化合物UK-2Aの物性値

性 状 :

白色針状結晶

IR (Nujol) (ν cm⁻¹):

3350, 2950-2800, 1740, 1640, 1600, 1570, 1240, 1140

¹H-NMR (δ ppm) (CDCl₃, 400 MHz):

1.23(d, 6H), 1.32(d, 3H), 2.60(m, 1H), 2.72(bd, 1H), 2.96(dd, 1H),
2.97(dt, 1H), 3.68(bs, 1H), 3.95(s, 3H), 4.99(dq, 1H), 5.15(bt, 1H),
5.20(t, 1H), 5.33(bs, 1H), 6.87(d, 1H), 7.12(d, 2H), 7.19(d, 1H),
7.26(d, 2H), 7.99(d, 1H), 8.73(d, 1H), 11.90(s, 1H).

¹³C-NMR (δ ppm) (CDCl₃, 100 MHz):

17.88(q), 18.97(q), 34.18(d), 34.69(t), 50.25(d),
52.04(d), 56.29(q), 64.96(d), 74.86(d), 75.25(d),
109.74(d), 126.73(d), 128.64(d), 128.79(d), 129.56(s),
137.98(s), 140.23(d), 149.29(s), 156.18(s), 168.72(s),
169.67(s), 171.83(s), 175.61(s).

FAB MS:

m/z: 515.2 (M+H)⁺

HR FAB MS:

m/z: 515.2032 (M+H)⁺ for C₂₄H₂₁N₂O₂.

【0037】実施例2: UK-2B {式(1)において、Rがチグロイル基(trans-2-メチル-2-ブテノイル基)である化合物}の製造。

実施例1のステップcで得られた粗精製物をDevelosil-ODSカラム(ϕ 20×250mm, 野村化学社製)を用いる逆相高速カラムクロマトグラフィー(HPLC)に付し、210nmの紫外吸収でモニターしながら、60%アセトニトリル/水で流速5ml/minで展開した。UK-2Bはこの条件で保持時間6.9 ※

* ODSカラム(ϕ 20×250mm, 野村化学社製)を用いる逆相高速カラムクロマトグラフィー(HPLC)に付し、210nmの紫外吸収でモニターしながら、60%(容積比)アセトニトリル/水で流速5ml/minで展開した。UK-2Aはこの条件で保持時間6.0分の箇所にシングルピークとして溶出された。同様の条件でHPLCの分取を繰り返し、ステップcの粗精製物200mgから合計120mgのUK-2Aを得た。この化合物の物性値を【表2】に示す。UK-2Aは、これらのデータから、式(1)においてRがイソブチリル基(2-メチルプロパノイル基)である化合物と構造決定された。

【0036】

【表2】

※分の箇所にシングルピークとして溶出された。同様の条件でHPLCの分取を繰り返し、ステップcの粗精製物200mgから合計2mgのUK-2Bを得た。この化合物の物性値を【表3】に示す。UK-2Bは、これらのデータから、式(1)においてRがチグロイル基(trans-2-メチル-2-ブテノイル基)である化合物と構造決定された。

【0038】

【表3】

〔表 3〕化合物 UK-2B の物性値

性 状 :

白色針状結晶

 $^1\text{H-NMR}$ (δ ppm) (CDCl_3 , 400 MHz) :

1.33(d, 3H), 1.84(dd, 3H), 1.86(bs, 3H), 2.74(dd, 1H), 2.95(dt, 1H),
 3.01(dd, 1H), 3.70(bs, 1H), 3.96(s, 3H), 5.02(dq, 1H), 5.18(bt, 1H),
 5.29(t, 1H), 5.36(bs, 1H), 6.91(d, 1H), 6.95(dd, 1H), 7.12(d, 2H),
 7.18(d, 1H), 7.25(d, 2H), 8.01(d, 1H), 8.83(d, 1H), 11.86(s, 1H).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (δ ppm) (CDCl_3 , 100 MHz) :

12.18(q), 14.59(q), 17.91(q), 34.71(t), 50.32(d), 52.03(d),
 56.41(q), 63.34(d), 75.03(d), 75.06(d), 109.58(d), 126.63(d),
 127.82(d), 128.63(d), 128.76(d), 129.34(s), 138.05(s), 140.05(s),
 140.10(d), 152.34(s), 158.88(s), 166.59(s), 168.41(s), 171.93(s),
 176.13(s).

FAB MS :

 m/z : 527.1 (M+H)⁺

HR FAB MS :

 m/z : 527.2030 (M+H)⁺ for $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_9$

【0039】実施例 3 : UK-2C (式 (1) において、R がイソバレリル基 (3-メチルブタノイル基) である化合物) の製造。

実施例 1 のステップ c で得られた粗精製物を Devel
 osil-ODS カラム ($\phi 20 \times 250$ mm, 野村化
 学社製) を用いる逆相高速カラムクロマトグラフィー
 (HPLC) に付し、210 nm の紫外吸収でモニター
 しながら、60% アセトニトリル/水で流速 5 ml/min
 で展開した。UK-2C はこの条件で保持時間 8
 1.5 分の箇所にショルダーピークとして溶出された。*

* UK-2C は、このショルダーピークを分取し、同様の
 条件で HPLC を繰り返してシングルピークを示すまで
 精製することにより得られた。このようにして、ステッ
 プ c の粗精製物 200 mg から合計 1 mg の UK-2C
 を得た。この化合物の物性値を〔表 4〕に示す。UK-
 2C は、これらのデータから、式 (1) において R がイ
 ソバレリル基 (3-メチルブタノイル基) である化合物
 と構造決定された。

【0040】

〔表 4〕

〔表 4〕化合物 UK-2C の物性値

性 状 :

白色粉末

 $^1\text{H-NMR}$ (δ ppm) (CDCl_3 , 400 MHz) :

0.99(d, 6H), 1.33(d, 3H), 2.16(m, 1H), 2.26(bd, 2H), 2.72(d, 1H),
 2.92(d, 1H), 2.96(dt, 1H), 3.77(bs, 1H), 3.99(s, 3H), 4.97(dq, 1H),
 5.14(bt, 1H), 5.22(t, 1H), 5.32(bs, 1H), 6.95(d, 1H), 7.12(d, 2H),
 7.20(d, 1H), 7.25(d, 2H), 8.03(bd, 1H), 9.09(bs, 1H), 11.85(s, 1H).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (δ ppm) (CDCl_3 , 100 MHz) :

17.92(q), 22.46(q), 25.49(d), 34.70(t), 43.18(t), 50.06(d),
 52.00(d), 56.24(q), 64.99(d), 74.79(d), 75.01(d), 109.64(d),
 126.76(d), 128.62(d), 128.76(d), 129.51(s), 137.88(s), 140.35(d),
 149.06(s), 155.89(s), 168.69(s), 169.69(s), 171.80(s), 175.30(s).

EIMS :

 m/z : 528 (M⁺) for $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_9$

【0041】実施例4: UK-2D {式(1)において、Rが2-メチルブタノイル基である化合物}の製造。

実施例1のステップcで得られた粗精製物をDevelosil-ODSカラム($\phi 20 \times 250$ mm, 野村化学社製)を用いる逆相高速カラムクロマトグラフィー(HPLC)に付し、210nmの紫外吸収でモニターしながら、60%アセトニトリル/水で流速5ml/minで展開した。UK-2Dはこの条件で保持時間82分の箇所に、UK-2Cのショルダーピークを伴って溶

【表5】化合物UK-2Dの物性値

性状:

白色粉末

$^1\text{H-NMR}$ (δ ppm) (CDCl_3 , 400 MHz):

0.95(t, 3H), 1.22(d, 3H), 1.33(d, 3H), 1.52(m, 1H), 1.77(m, 1H),
2.43(m, 1H), 2.72(d, 1H), 2.92(d, 1H), 2.96(dt, 1H), 3.77(bs, 1H),
3.99(s, 3H), 4.97(dq, 1H), 5.14(bt, 1H), 5.22(t, 1H), 5.32(bs, 1H),
6.95(d, 1H), 7.12(d, 2H), 7.20(d, 1H), 7.25(d, 2H), 8.03(bd, 1H),
9.09(bs, 1H), 11.85(s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (δ ppm) (CDCl_3 , 100 MHz):

11.79(q), 16.74(q), 17.92(q), 26.51(t), 34.70(t), 41.27(d),
50.06(d), 52.00(d), 58.24(q), 64.99(d), 74.79(d), 75.01(d),
109.64(d), 126.76(d), 128.62(d), 128.76(d), 129.51(s), 137.88(s),
140.35(d), 149.06(s), 155.89(s), 168.69(s), 169.69(s), 171.80(s),
175.30(s).

EIMS:

m/z: 528 (M^+)

HR EIMS:

m/z: 528.2114 (M^+) for $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$

【0043】評価例1: UK-2Aの抗菌スペクトラムの測定

本発明の化合物の一つであるUK-2Aの抗菌スペクトラムを液体希釈法(山口英世著「今日の抗生物質」16 ※

* 出された。UK-2Dは、このメインピークを分取し、同様の条件でHPLCを繰り返し、シングルピークを示すまで精製することにより得られた。このようにして、ステップcの粗精製物200mgから合計20mgのUK-2Dを得た。この化合物の物性値を【表5】に示す。UK-2Dは、これらのデータから、式(1)においてRが2-メチルブタノイル基である化合物と構造決定された。

【0042】

【表5】

※ 2-189頁・1984年・東京・南山堂)を用いて評価した。その結果を【表6】に示す。

【0044】

【表6】

〔表 6〕 UK-2 A の抗真菌活性

微生物名	株番号	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
<i>Candida albicans</i>	IFO 1061	0.39
<i>Candida rugosa</i>	IFO 1364	0.05
<i>Candida utilis</i>	IFO 6020	> 100
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	IFO 0203	> 100
<i>Aspergillus fumigatus</i>	IFO 5840	0.78
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 6275	0.39
<i>Aspergillus oryzae</i>	分離株	0.025
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	分離株	0.00625
<i>Mucor mucedo</i>	IFO 7684	12.5
<i>Neurospora sitophila</i>	DSM 1130	12.5
<i>Penicillium crysogenum</i>	IFO 4626	0.1
<i>Penicillium notatum</i>	IFO 4640	0.39
<i>Phycomyces nitens</i>	IFO 7684	0.00625
<i>Rhizopus chinensis</i>	分離株	0.78
<i>Rhizopus delemar</i>	IFO 4775	25
<i>Rhizopus formosensis</i>	IFO 4732	6.25
<i>Rhizopus niveus</i>	IFO 4759	0.00313
<i>Rhizopus oryzae</i>	IFO 4766	0.025
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	IFO 5292	0.00625
<i>Thamnidium elegans</i>	IFO 6152	0.00156
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	分離株	0.2

【0045】 UK-2 A は、〔表 6〕に示すように、カンジダ等の酵母およびアスペルギルス、ペニシリウム、ムコール、クラドスポリウム、リゾプス、スクレロチナ、トリコデルマ等の糸状菌を含む真菌に対して強い抗菌作用を示したが、細菌に対しては抗菌作用を示さなかった。また、UK-2 B、UK-2 C および UK-2 D も UK-2 A と同様の抗菌スペクトラムを示した。さらに、本発明の UK-2 化合物はいずれも、マウス白血病細胞である P388 に対して、 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で増殖抑制作用を殆ど示さなかった。

【0046】

【発明の効果】本発明によれば、新規な抗真菌物質である UK-2 およびストレプトバーティシリウムに属する *

* UK-2 生産菌を培養して、その培養液および/または培養菌体から UK-2 を製造する方法を提供することができる。本発明の UK-2 は、9 員環のジラクトン構造を有する新規な抗真菌物質であり、R に種々のアシル基が導入されたエステル体の混合物として得られるが、これらの類縁体は同様の抗菌活性を有するため、これらの類縁体を単離しては勿論、その用途に応じてこれらの類縁体の混合物のまま、抗真菌剤の有効成分として使用することができる。本発明の UK-2 化合物は、培養細胞に対して細胞毒性が低いので、ヒトおよび哺乳類、魚類に対しても毒性が低いことが予想され、医薬および動物薬、農園芸用抗真菌剤および工業用抗真菌剤として応用することが可能である。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁶

C07D 213:81

321:00)

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

(C 1 2 P 17/16
C 1 2 R 1:645)

(72)発明者 阿部 圭一
大阪府三島郡島本町若山台 1 丁目 1 番 1 号
サントリー株式会社生物医学研究所内
(72)発明者 児玉 亨
大阪府三島郡島本町若山台 1 丁目 1 番 1 号
サントリー株式会社生物医学研究所内

(72)発明者 魚谷 和道
神奈川県小田原市栢山788 明治製菓株式
会社薬品技術研究所内
(72)発明者 大西 由孝
神奈川県小田原市栢山788 明治製菓株式
会社薬品技術研究所内